第29卷,第8期
2009年8月

光 谱 学 与 光 谱 分 析
Spectroscopy and Spectral Analysis

Vol. 29, No. 8, pp2213-2216
August, 2009

菲及腐殖酸混合液荧光法定量分析研究

金 丹[1], 李国刚[2], 张玉钧[1*], 肖 雪[1], 赵南京[1], 殷高方[1], 刘文清[1]

1. 中国科学院环境光学与技术重点实验室, 中国科学院安徽光学精密机械研究所, 安徽 合肥 230031
2. 中国环境监测总站, 北京 100029

摘 要 多环芳烃作为普遍关注的优先监测污染物, 在水环境中其含量很低, 易受共存物腐殖酸的干扰。由于多环芳烃与腐殖酸的光谱重叠严重, 很难用常规方法快速的定量检测。菲(PHE)作为多环芳烃中的模式化合物, 对菲和腐殖酸(HA)的荧光光谱特性进行了研究, 分析了腐殖酸共存下对菲定量检测的影响。采用平行因子算法分析混合液的三维荧光光谱, 在激发波长为240～360 nm(5 nm为间隔)、发射波长为260～575 nm(5 nm为间隔)下对该体系进行了分辨研究,并对菲和腐殖酸进行荧光光谱测量。实验结果表明, 此方法可用于有干扰共存下多环芳烃化合物的直接快速定量检测。

关键词 三维荧光光谱; 荧光光谱重叠; PARAFAC算法; 菲; 腐殖酸
中图分类号: X830.2 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)08-2213-04

引 言

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是指两个或两个以上的苯环按线形、角状或簇状方式稠合在一起的一类中性或非极性有机化合物。水体中的PAHs主要来源于大气沉降、城市污水和工业废水的排放、石油的溢漏, 污染物进入地表水和地下水, 导致饮用水水源受到污染。由于其在环境中难降解, 持久性强并具有强的"三致"效应, 同时环境中存在的多环芳烃浓度很低, 又受共存物干扰, 因此, 必须对多环芳烃的含量进行检测, 为水体质量控制与评价提供科学依据。菲因具有独特的化学结构, 成为PAHs研究中的模式化合物。

随着分析化学的不断发展, 光谱分析技术逐渐被应用到水污染多环芳烃含量的监测中, 在对多环芳烃的荧光光谱特征、分析方法、种类鉴别中进行了研究, 做了大量的实验工作[1-5]。然而, 在水环境中, 腐殖质是溶解有机物(dissolved organic matter, DOM)的主要组分, 其含量可以达到几mg·L^{-1}, 一般高于多环芳烃的含量[6]; 由于多环芳烃和腐殖酸的荧光光谱存在较大范围的重叠, 因此在测量时必须将多环芳烃从溶解有机物背景中分离出来。本文以菲作为研究对象, 运用平行因子算法对菲与腐殖酸的三维荧光光谱进行了分离研究, 着重分析了水中腐殖酸对菲浓度荧光光谱测量的影响。

1 实验部分

1.1 实验仪器及材料

本实验所用的仪器为荷兰SKALAR公司生产的三维荧光成像仪, 型号为: FLUO-IMAGER M153, 其主要性能如下: 测量原理为荧光扫描; 光源150 W氙灯; 单色仪使用凹面全息衍射光栅600 l·mm^{-1}; 测量波长范围: 激发240～360 nm, 发射260～585 nm; 分辨率1 nm; 响应时间6 min; 检测器PMT。该仪器可根据扫描的荧光光谱数据生成以发射波长为X轴, 激发波长为Y轴, 发射荧光强度为Z轴的三维荧光光谱图。

实验样品为不同浓度梯度的菲水溶液、不同浓度梯度的腐殖酸水溶液, 及两种物质不同浓度配比的混合液。这两种有机物在水中的溶解度非常低, 为了适当增加其溶解量, 在配制水溶液时, 曾采取乙醇作为菲储备液的溶剂, 而腐殖酸溶液的配制则采用多次碱溶合后调节溶液至中性得到腐殖酸储备液。

1.2 数据分析方法

本文采用PARAFAC(parallel factor analysis)算法对不同荧光物质的光谱进行分离, 可以从复杂混合成分的三维荧光光谱数据即激发发射光谱(excitation-emission matrix,

收稿日期: 2008-06-16, **修订日期**: 2008-09-20
基金项目: 国家"863"计划项目(2007AA061502)资助
作者简介: 金 丹, 女, 1983年生, 中国科学院安徽光学精密机械研究所硕士生 e-mail: djin@aiofm.ac.cn
*通讯联系人 e-mail: yjzhang@aiofm.ac.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

EEM)矩阵中分解出其各自的特征荧光光谱。

PARAFAC 算法是一种多维分析方法，同时也是一种分解方法，是对主成份分析(PCA)向更高阶阵列的一种扩展；在分析时，可将一个由多个 EEM 数据构成的三维阵列(样品×激发×发射)分解为 3 个载荷矩阵：A，B 和 C。PARAFAC 模型可由 **A，B 和 C** 给出，包括的元素分别为 a_{if}，b_{jf} 和 c_{kf}。求解 3 个载荷矩阵 A，B 和 C，使得拟合残差的平方和最小。PARAFAC 模型可表示为

$$\chi_{ijk} = \sum_{f=1}^{F} a_{if} b_{jf} c_{kf} + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

对于 EEM 数据来说，(1)式中 χ_{ijk} 为第 i 个样品的荧光强度，此时激发和发射波长分别为矩阵中第 k 行对应的激发波长、第 j 列对应的发射波长；a_{if} 为第 i 个样品第 f 个荧光团的浓度比例分数；b_{jf} 及 c_{kf} 分别为第 f 个荧光团的发射及激发光谱；F 为独立的荧光团组分数；ε_{ijk} 为模型的余项[7]。得到的 3 个载荷矩阵 A，B 和 C，分别为与浓度值相对应的得分、激发光谱和发射光谱。

PARAFAC 模型可以通过交替最小二乘法(alternating least squares，ALS)来求解，先合理地假设其中的两个载荷矩阵，然后估计出其余的未知参数。

2 结 果

2.1 菲与腐殖酸的三维荧光光谱

图 1 为菲及腐殖酸溶液的三维荧光光谱图，图 1(a)为菲溶液的三维荧光光谱图，图中的两个荧光峰分别位于 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = 255/370 nm 和 295/370 nm，这两个峰均由菲产生，峰的

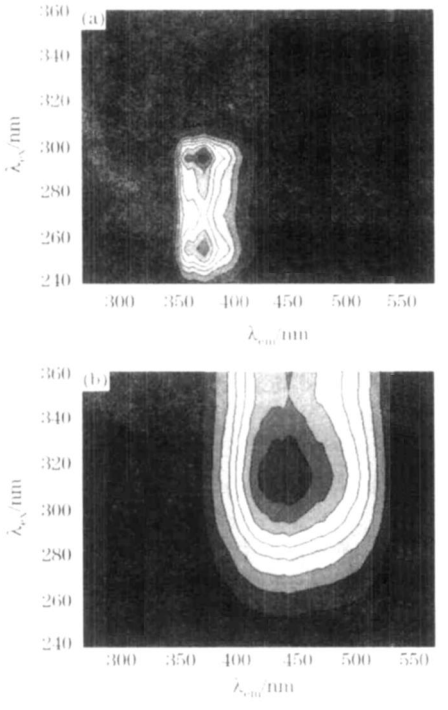

Fig 1 There dimensional fluorescence spectra of phenanthrene and humic acid solution

荧光激发波长不同，发射波长均为 370 nm。图 1(b)为腐殖酸水溶液的三维荧光光谱图，图中有一个荧光峰在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = 310/440 nm 处。根据荧光峰的位置，可以推断出菲的 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = 295/370 nm 处的荧光峰受腐殖酸荧光峰的影响较大，两者存在较大范围的重叠。

2.2 两溶液的拟合曲线

选用乙醇做溶剂配制 1 mg·L^{-1}菲储备液，用去离子水准确配制浓度梯度为 5，10，20，50，100，250 μg·L^{-1}的菲标准溶液；配制浓度梯度为 0.5，1，2，2.5，4，5 mg·L^{-1}的腐殖酸标准溶液，然后利用 PARAFAC 模型对去除背景后的原始荧光谱进行拟合，得到菲及腐殖酸的拟合光谱(见图 1)，同时得到浓度与得分值之间的关系曲线，如图 2 所示。

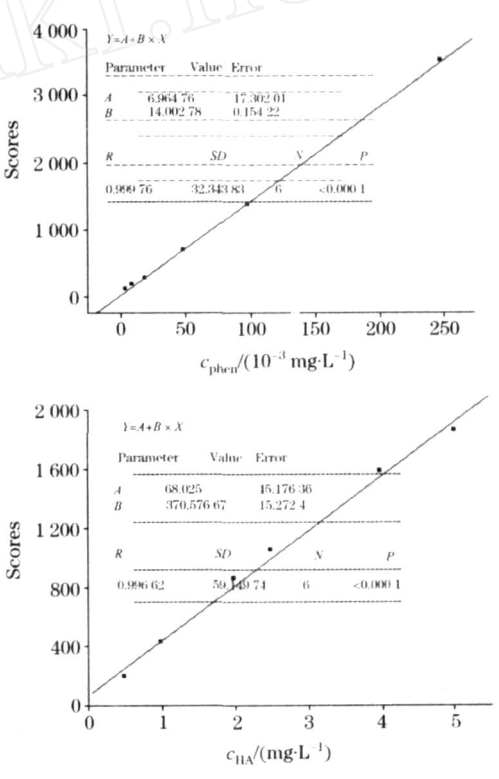

Fig 2 Calibration curve for phenanthrene and humic acid solution

图 2 为菲及腐殖酸标准溶液浓度与得分值的工作曲线，通过最小二乘拟合，得到菲的得分值与浓度的线性回归方程为 $y = 14.002\,78x + 6.964\,76$，线性回归系数为 0.999 76；腐殖酸的得分值与浓度之间的线性回归方程为 $y = 370.576\,67x + 68.025$，线性回归系数为 0.996 62，结果表明菲与腐殖酸的浓度与其得分值之间均具有较好的线性关系。

2.3 混合液中菲与腐殖酸的相互影响

图 3 为相同浓度菲不同浓度腐殖酸的混合溶液，溶液中菲的浓度为 20 μg·L^{-1}，腐殖酸的浓度分别为 0.2，0.5，1.0、2.5 mg·L^{-1}。由该图可知，当腐殖酸浓度低于 0.5 mg·L^{-1}时，菲的荧光峰不受腐殖酸荧光的影响，而当腐殖酸浓度达到 2.5 mg·L^{-1}时，菲的荧光峰受到了严重影响，菲的三维荧光光谱信息严重损失，因此，需要解决其光谱重叠

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

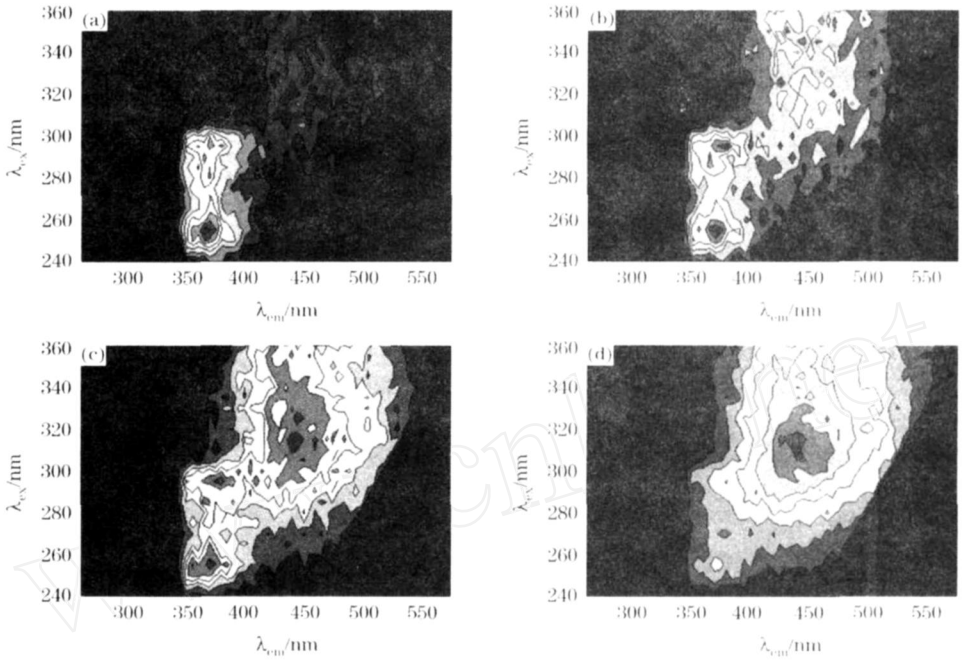

Fig 3　Three dimensional fluorescence spectra of phenanthrene and humic acid mixed solution

c_{phen} = 20 μg ·L^{-1}; (a): c_{HA} = 0.2 mg ·L^{-1}; (b): c_{HA} = 0.5 mg ·L^{-1};
(c): c_{HA} = 1.0 mg ·L^{-1}; (d): c_{HA} = 2.5 mg ·L^{-1}

问题。

根据图 3，我们可以看出，当菲与腐殖酸的荧光强度值相差较大时，其定量分析受到的影响越小，经数学分离后的实测值越接近理论值。

2.4　定量分析混合液中菲与腐殖酸

准确配制下述浓度的菲与腐殖酸混合溶液，对 9 个二元混合物作了测定，表 1 列出了菲与腐殖酸二元混合物的理论浓度及实测浓度。对实测浓度的检测，本文采用 PARAFAC 算法，得到菲与腐殖酸分离后各自的得分值，再根据菲与腐殖酸的线性回归方程计算出各自的浓度，得到实测浓度。

Table 1　Experiment results of two component analysis

序号	理论浓度		实测浓度	
	c_{phen} / (μg ·L^{-1})	c_{HA} / (mg ·L^{-1})	c_{phen} / (μg ·L^{-1})	c_{HA} / (mg ·L^{-1})
1	20	0.2	17.50	0.04
2	20	0.5	14.02	0.40
3	20	1	14.66	0.94
4	20	2	17.40	2.19
5	20	2.5	17.13	2.50
6	50	1	40.15	1.30
7	50	2	42.71	2.11
8	50	4	38.40	3.88
9	50	5	37.11	4.80

3　讨　论

对水环境中 PAHs 混合样品的测定，目前常采用高效液相色谱、气相色谱及气相色谱/质谱联用[8-12]等方法对其进行分离、检测，上述方法多是将水体中的 PAHs 经液-液萃取后测定其含量的，存在样品预处理繁琐的缺点。由于 PAHs 中菲具有较高的荧光量子产率，可利用其荧光特性对其进行测量，但是水环境中的腐殖酸也具有荧光特性，根据图 3 中菲与腐殖酸在浓度配比不同时的光谱图，可看出腐殖酸的荧光光谱与菲的荧光光谱存在严重的重叠现象。为解决重叠问题并实现快速检测，本文通过三维荧光光谱技术得到激发-发射矩阵，该矩阵包含了荧光物质完整的稳态荧光信息，对激发-发射矩阵数据采用 PARAFAC 算法实现了光谱的分离，不需要化学预处理分离可直接测定混合物中的各种组分，即通过“数学分离”部分代替“化学分离”。

菲与腐殖酸二元混合液的浓度测量结果如表 1 所示，菲与腐殖酸的实测浓度均比理论浓度偏小，该结果可能与腐殖酸对菲的吸附有关。腐殖酸可以通过疏水作用、配为交换和氢键作用吸附有机污染物。有实验证明，腐殖酸对疏水性有机物——菲的等温吸附在低浓度范围表现为线性；在高浓度时，为非线性，即腐殖酸分子对菲的吸附能力增加[13]。也可能因为腐殖酸的存在加速了 PAHs 的降解[14]。

4　结　论

本文以菲作为研究对象，一方面，煤、石油等化石燃料燃烧过程产生了大量包括菲在内的多环芳烃致癌物质，在水体、沉积物、土壤都发现了此类物质的存在，另一方面，菲是美国环保署指定的 16 种优先控制多环芳烃中的一种。

通过三维荧光光谱技术结合 PARAFAC 算法对水中多环芳烃——菲浓度的快速测量，详细分析了水中溶解有机物

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

对菲浓度测量的影响。实验结果表明，运用 PARAFAC 算法，达到了对混合液中菲及腐殖酸的重叠三维荧光光谱分开的效果；同时，对 9 个不同浓度配比的菲、腐殖酸二元混合物进行了定量分析，其分析结果良好。因此，三维荧光光谱技术结合 PARAFAC 算法可用于快速检测大量溶解有机物存在条件下水中微量多环芳烃浓度的分析。

参 考 文 献

[1] Beltran J L, Guiteras J, Ferrer R. J. Chromatogr. A, 1998, 802: 263.
[2] Roch Th. Anal. Chim. Acta, 1997, 356: 61.
[3] Warner I M, Christian G D, Davidson E R, et al. Anal. Chem., 1977, 49: 564.
[4] LI Hong-bin, LIU Wen-qing, WANG Zhi-gang, et al(李宏斌, 刘文清, 王志刚, 等). Chinese Journal of Quantum Electronics(量子电子学报), 2007, 24(3): 306.
[5] ZHAO Nan-jing, LIU Wen-qing, CUI Zhi-cheng, et al(赵南京, 刘文清, 崔志成, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(5): 922.
[6] Tatiana A D, Victor V F, Irina V G, et al. Appl. Opt., 2002, 41 (24), 5155.
[7] Stedmon C A, Markager S, Bro R., Marine Chem., 2003, 82: 239.
[8] Tong H Y, Karasek F W. Anal. Chem., 1984, 56: 2129.
[9] Beltran J L, Guiteras J, Ferrer R. Anal. Chem., 1998, 70: 1949.
[10] Cecil T L, Rutan S C. J. Chromatogr., 1991, 556: 495.
[11] Martinez E, Gros M, Lacorte S, et al. J. Chromatogr. A, 2004, 1047(2): 181.
[12] Baker A. Environmental Science & Technology, 2001, 35 (5): 948.
[13] LI Li, YU Zhi-qiang, SHENG Guo-ying, et al(李 丽, 于志强, 盛国英, 等). Environmental Chemistry(环境化学), 2004, 23(4): 381.
[14] XIA Xing-hui, ZHANG Xi, YANG Zhi-feng, et al(夏星辉, 张 曦, 杨志峰, 等). Environmental Science(环境科学), 2006, 27(1): 115.

Quantitative Analysis of Phenanthrene and Humic Acid in Solution Based on Fluorescence Method

JIN Dan[1], LI Guo-gang[2], ZHANG Yu-jun[1*], XIAO Xue[1], ZHAO Nan-jing[1], YIN Gao-fang[1], LIU Wen-qing[1]

1. Key Laboratory of Environmental Optics & Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, the Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China
2. China National Environmental Monitoring Center, Beijing 100029, China

Abstract Polycyclic aromatic hydrocarbons as a universal concern in the monitoring of priority pollutants have low content in the water environment and are interfered with the coexistence of humic acid. The spectra of humic acid and polycyclic aromatic hydrocarbons overlap seriously, so it was difficult to use the conventional methods for rapid quantitative detection. As a model compound of polycyclic aromatic hydrocarbons, Phenanthrene (PHE) was chosen in the experiment. The fluorescence spectra of PHE and humic acid (HA) were investigated by three dimensional fluorescence excitation-emission matrix. The method combined excitation-emission matrix fluorescence spectra with parallel factor analysis and was applied to determine PHE and HA directly. The excitation wavelength changed from 240 to 360 nm at an interval of 5 nm. The emission wavelength varied from 260 to 575 nm at an interval of 5nm. The satisfactory results show that this experiment can be easily performed without paying out time-consuming and complicated procedures.

Keywords Three-dimensional fluorescence spectra; Overlapping of fluorescence spectra; PARAFAC; Phenanthrene; Humic acid

(Received Jun. 16, 2008; accepted Sep. 20, 2008)

* Corresponding author

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net